

UTILIZAÇÃO DE COACERVADOS DE PROTEÍNAS SOROLÁCTEAS/CMC PARA MICROENCAPSULAÇÃO DE HIDROLISADOS PROTÉICOS

SILVIA H.F. **FAVARON**¹; NATACHA K. **IVANOV**²; MARIA T.B. **PACHECO**³;
APARECIDA S. **SOUZA**⁴; VERA S.N. **SILVA**⁴; GINA M.B.Q. **CARDOZO**⁴; ALCINA M.
LISERRE⁵

Nº10225

RESUMO

O estudo tem como objetivo desenvolver uma metodologia para mascarar o sabor amargo, reduzir a higroscopicidade e a reatividade de peptídeos bioativos. Para tanto foi utilizada a técnica de encapsulação, e como agente encapsulante o coacervado de proteínas de soro de leite (PSL) com carboximetilcelulose (CMC). O ativo foi obtido pela hidrólise das proteínas do soro de leite (10% p/v) com pancreatina (2% E:S). O coacervado foi obtido na concentração de 1:0,3 (PSL:CMC) e pH 3,5. As cápsulas foram formadas no equipamento mini spray dryer (BÜCHI B-290) (T:110°C; fluxo de ar: 30m³/h; fluxo da bomba de alimentação 25mL/min). As partículas secas foram observadas em microscópio eletrônico de varredura e apresentaram um tamanho inferior a 40 microns. No estudo da estabilidade das microcápsulas, deixadas em diferentes valores de pH foi observado que no pH 1,5 na presença de tripsina, as cápsulas permanecem integras. No pH 7,5, 30% das cápsulas permanecem inteiras depois de 6 horas na presença de pancreatina, na temperatura de 36°C, sob agitação, simulando as condições gastrointestinais (AKESON & STAHMANN, 1964). O complexo coacervado de PSL/CMC promoveu a liberação controlada do hidrolisado no modelo utilizado simulando as condições gastrointestinais.

Palavras chaves: Hidrolisados protéicos, microencapsulação, proteínas de soro de leite, carboximetilcelulose, liberação controlada.

¹ Bolsista CNPq: Graduação em Nutrição, UNIP, Campinas-SP, ✉ silviafavaron@gmail.com

² Bolsista CNPq: Graduação em Engenharia de Alimentos, FEA/UNICAMP, Campinas-SP, ✉ natacha.ivanov@gmail.com

³ Orientador: Pesquisador, CCQA/ITAL, Campinas-SP.

⁴ Colaborador: Pesquisador, CCQA/ITAL, Campinas-SP.

⁵ Colaborador: Pesquisador, TECNOLAT/ITAL, Campinas-SP.

ABSTRACT

The study aims to develop a methodology to mask the bitter taste, to reduce the hygroscopic and reactivity of bioactive peptides. It will be used the encapsulation's technique, and encapsulating agent the coacervate of whey protein (WPC) with carboxymethylcellulose (CMC). The active was obtained through hydrolysis of whey proteins (10% p/v) with pancreatin (2%E:S). The coacervate was obtained in the concentration of 1:0,3 (protein:CMC) and pH 3,5. The capsules were formed in the mini spray dryer equipment (Bücher B-290) (T: 110°C; air flux: 30m³/ h; flux of the pump power 25mL/min). The dry particles observed by electronic scanning microscopy presented 40 microns size inferior. In the study of the stability of the microcapsules, left in different values of pH and enzymes was observed that in the values of pH the 1,5 with tripsina presence, the capsules remained unbroken. At pH 7,5, 30% had remained unbroken after 6 hours in the presence of pancreatine, in temperature of the 36⁰C, under agitation, simulating gastrointestinal conditions (AKESON & STAHMANN, 1964). The WP/CMC coacervate complexes promoting the controlled release of bioactive hidrolisate in simulated gastrointestinal model.

Key words: Hydrolysate protein, micro encapsulation, whey protein, carboxymethylcellulose, controlled release.

INTRODUÇÃO

O conceito da microencapsulação tem como base o modelo celular, onde o núcleo é envolto por uma membrana semipermeável, que protege o conteúdo do ambiente e permite trocas. Similar a uma parede que isola o material ativo e controla a liberação, sob estímulo específico (JIZOMOTO, *et al.*, 1993). A escolha do agente encapsulante depende de uma série de fatores, entre eles a não reatividade com o material a ser encapsulado, o tamanho das partículas, o mecanismo de liberação, entre outros (JACKSON & LEE, 1991).

Os materiais mais utilizados como encapsulantes incluem: gomas (arábica, agar, alginato de sódio); carboidratos (amidos, dextrinas, sacarose); celulosas (carboximetilcelulose, etil, metil, nitro-celulose); lipídeos (cera, triesterina, ácido esteárico, mono e diglicerídeos, óleos e gorduras hidrogenadas) e proteínas (glúten, caseína, isolado protéico de soro de leite, albumina e algumas fontes alternativas como quitosana) (SHAHIDI & HAN, 1993).

As características de liberação do material ativo ocorrem devido a mecanismos como: variação de temperatura e pH, solubilidade, biodegradação, ruptura, permeabilidade seletiva, gradiente de concentração (PEPPAS & BRANNON-PEPPAS, 1996).

As soroproteínas bovinas (20-22% do total de proteínas do leite) exercem diversas funções: nutricionais (fonte de aminoácidos), tecnológicas (propriedades funcionais e sensoriais), e funcionais, pois possuem dentro de sua estrutura primária regiões com atividades de proteção e regulação das funções biológicas. As propriedades funcionais biológicas fazem desses componentes potenciais ingredientes de alimentos promotores de saúde. (KORHONEN & PIHLANTO, 2006). Os hidrolisados são resultado da hidrólise das proteínas do soro de leite (PSL), por meio da ação de proteases, em temperatura e pH controlados. Produtos com alto grau de hidrólise resultam na ocorrência de peptídeos amargos. Portanto, a aplicação desses compostos é limitada, uma vez que os mesmos são extremamente higroscópicos, reativos e muitos apresentam tanto sabor e aroma desagradáveis. O presente estudo tem como objetivo encapsular os hidrolisados protéicos, utilizando como matriz coacervados de proteínas do soro com polissacarídeos, visando tanto a redução do amargor e higroscopicidade deste produto, como a liberação controlada ao longo da digestão.

MATERIAIS E MÉTODOS

A caracterização da matéria prima e hidrolisado foi realizada pela metodologia da AOAC (2005). Como material ativo para microencapsulação, foi produzido um hidrolisado protéico de soro de leite (PSL), utilizando o sistema enzimático pancreatina (Sigma P1750). A condição selecionada foi de 10% (p/v) de substrato e 2% de enzima de (p/v). Para a hidrólise foi utilizado o método do pH stat (ALDER-NILSEN, 1986).

Como agente encapsulante foi utilizado complexos coacervados formados pela união de proteínas do soro de leite (PSL) com carboximetilcelulose (CMC - Induskol FG-3000). A melhor condição de coacervação foi determinada pela menor concentração de nitrogênio solúvel no sobrenadante, após complexação dos biopolímeros.

A proporção de material ativo (hidrolisado) e agente encapsulante (coacervado) foi de 20:100 (p/p). Para microencapsulação foi utilizado o spray dryer (Mini Spray Dryer BÜCHI B-290). Os parâmetros de operação foram: Temperatura de entrada: 110°C; Temperatura de saída: 65°C; Fluxo de ar: 30m³/h; Fluxo da bomba de alimentação: 25mL/min.

Para a avaliação da desintegração das partículas, durante a digestão, foi utilizado o método de AKESON & STAHMANN (1964), o qual simula as condições gastrointestinais *in vitro*. A integridade das partículas foi monitorada por liberação do material ativo, determinando a liberação de nitrogênio para o meio, em alíquotas recolhidas do material em digestão, a cada hora de ensaio.

A morfologia das microcápsulas secas foi observada em microscópio eletrônico de varredura (modelo JEOL JSM 5800 LV, Tokyo, Japão).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O hidrolisado obtido a partir de proteínas de soro de leite (PSL) apresentou resultados similares quanto à composição centesimal do concentrado protéico, com exceção das proteínas e cinzas (TABELA 1).

TABELA 1 – Composição centesimal do concentrado de soro de leite e dos hidrolisados obtidos através com a pancreatina.

Composição (% base seca)	Concentrado do Soro de Leite (CSL)	Hidrolisado de CSL de Pancreatina
Proteína (N X 6,38)	83,86 ± 0,51	77,82 ± 0,42
Lipídeos	6,33 ± 0,14	6,15 ± 0,11
Cinzas	3,08 ± 0,09	9,81 ± 0,31
Lactose	6,73 ± 0,11	6,22 ± 0,22

*CSL = concentrado de soro de leite

Quanto ao estudo da cinética de reação os resultados apontaram que a maior velocidade de hidrólise ocorreu nas condições: relação enzima: substrato de 10% p/v, pH 7,5 e temperatura 37°C, e maior conteúdo de enzima (para obter um grau de hidrólise de 20%). Contudo foi selecionada a concentração de 2% (E:S) por utilizar a menor quantidade de enzima e atingir o grau 20% de hidrólise em 300 minutos (Figura1).

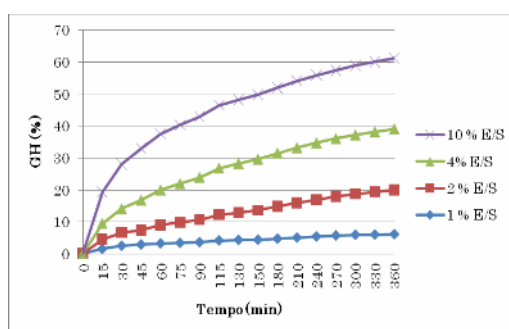


FIGURA 1 - Hidrólise de PSL (10%) hidrolisadas com pancreatina em diferentes concentrações enzima: substrato (p/p).

Para obtenção do complexo coacervado, uma vez definido o melhor valor de pH, onde houve maior reatividade de união entre os polímeros (proteína/polissacarídeo), foi realizada uma variação na concentração do polissacarídeo para encontrar a menor

relação de CMC favorável à coacervação dos complexos. A Figura 2 mostra que os melhores valores de reação e recuperação das proteínas foram obtidos em pH 3,5 na concentração de 0,3% para o CMC.

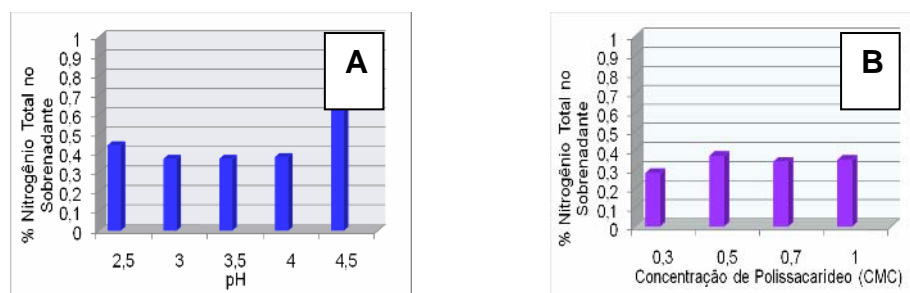


FIGURA 2. (A) Nitrogênio do sobrenadante (%) após a complexação de PSL com CMC em diferentes valores de pH e **(B)** concentrações (%).

A estabilidade das micropartículas de coacervado de CMC 0,3% foi observada através de microscopia eletrônica de varredura, sendo que as microfotografias das microcápsulas podem ser observadas na Figura 3. Observa-se a presença de partículas lisas e de maior tamanho, assim como menores e com a superfície enrugada. Os testes de digestibilidade revelaram que após 6 horas de digestão *in vitro*, 30% das capsulas permaneceram íntegras, conforme Figura 4.

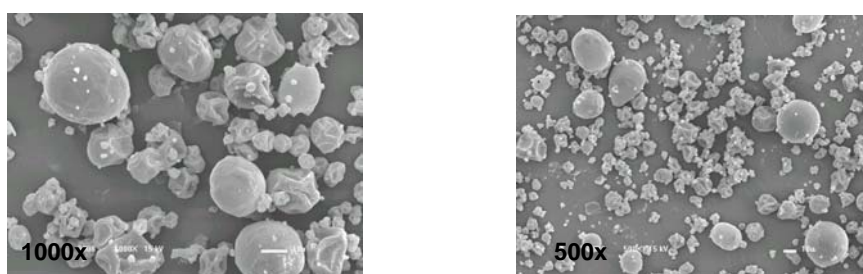


FIGURA 3. Morfologia das microcápsulas secas, observadas em microscópio eletrônico de varredura nos aumentos de 1000 e 500 vezes.

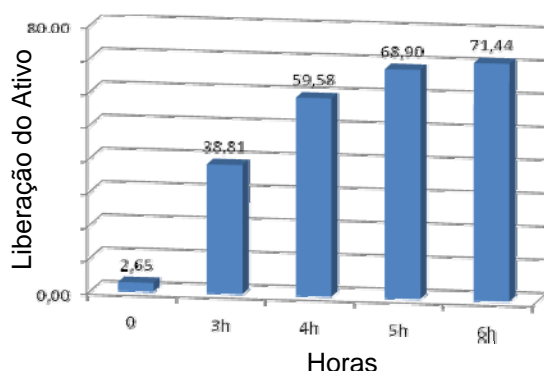


FIGURA 4. Liberação do ativo das partículas secas ao longo de 6 horas, nas condições gastrointestinais, simulada *in vitro*.

CONCLUSÃO

A melhor condição de coacervação do PSL:CMC foi na condição de 1:0,3% (p/p) e pH 3,5. O complexo apresentou-se adequado para produção de microcápsulas no *spray dryer*. As partículas secas apresentaram tamanho inferior a 40 microns, classificando-se assim, como microcápsulas. As partículas apresentaram um desejável potencial de liberação controlada nas condições do estudo, apresentando 30% das cápsulas integras após uma digestão de 6 horas (*in vitro*).

REFERÊNCIAS

1. ADLER-NISSEN, J. *Enzymic Hydrolysis of Food Proteins*, **Elsevier Applied Science Publishers**, London and New York, 1986.
2. A.O.A.C. HORWITZ, W. (Ed.) **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 18th ed., Gaithersburg, Maryland: AOAC, 2005.
3. AKESON, W. R.; STAHMANN, M. A. A pepsin pancreatin digest index of protein quality evaluation. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 83, n. 3, p. 257-261, 1964.
4. BRANNON-PEPPAS, L. Controlled release in the food and cosmetics industries **In: Polymeric delivery systems: properties and applications**, chapter 3, p. 42-52, 1993.
5. JACKSON, L.S.; LEE, K. Microencapsulation and Food Industry, **Lebensmittel-Wissenschaftat Technologie**, v. 24, n.4, p. 289-297, 1991.
6. JIZOMOTO, H.; KANAOKA, E.; SUGITA, K.; HIRANO, K. Gelatin-Acacia microcapsules for trapping micro oil droplets containing lipophilic drugs and ready disintegration in the gastrointestinal tract. **Pharmaceutical Research**, v. 10, n.8, p.1115-1122, 1993.
7. KORHONEN, H.; PIHLANTO, A. Bioactive peptides: production and functionally. **International Dairy Journal**, n.16, p.945-960, 2006.
8. SHAHIDI, F.; HAN, X.Q. Encapsulation of food ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 6, p. 501-547, 1993.